



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**MODIFICAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO
COM SILSESQUIOXANO E FTALOCIANINA DE NÍQUEL
PARA DETECÇÃO VOLTAMÉTRICA DE SULFANILAMIDA**

CAIO RAPHAEL VANONI FORCINITTI

Florianópolis
Novembro/2016

Caio Raphael Vanoni Forcinitti

**MODIFICAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO
COM SILSESQUIOXANO E FTALOCIANINA DE NÍQUEL
PARA DETECÇÃO VOLTAMÉTRICA DE SULFANILAMIDA**

Relatório final apresentado ao
Departamento de Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito parcial
da disciplina de Estágio
Supervisionado II (QMC 5512).

Orientador: Prof.^a Dr.^a Cristiane Luisa Jost

Coorientador: Mestrando João Paulo Winiarski

Florianópolis
Novembro/2016

Caio Raphael Vanoni Forcinitti

**MODIFICAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO
COM SILSESQUIOXANO E FTALOCIANINA DE NÍQUEL
PARA DETECÇÃO VOLTAMÉTRICA DE SULFANILAMIDA**

Prof. Dr. Luciano Vitali
Coordenador de Estágio do Curso de Química - Bacharelado

Banca Examinadora

Prof.^a Dr.^a Cristiane Luisa Jost
Orientador

Prof.^a Dr.^a Iolanda da Cruz Vieira
UFSC

Prof. Dr. Ivan Gonçalves de Souza
UFSC

Florianópolis
Novembro/2016

À minha mãe pelo seu cuidado e amor incondicional, ao meu namorado por sua paciência e carinho constantes, aos amigos e amigas pelos momentos inesquecíveis e à minha orientadora e coorientador que me ajudaram e acreditaram na qualidade do meu trabalho.

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer à minha mãe Célia por ser a pessoa que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida e que, inegavelmente, aposta até hoje na minha integridade humana e capacidade profissional; eu te amo minha mãe.

Às minhas três pequenas, Marcella, Consuello e Vitória, as filhas felinas que me ensinaram ainda mais a amar e que trouxeram em suas histórias a vitória contra os maus tratos; obrigado por me fazerem sorrir ao chegar em casa.

Ao meu namorado José Antônio, o homem que me mostrou que amor era algo que ainda não conhecia de verdade. Obrigado por cuidar de mim nos momentos que mais necessitei e por estar ao meu lado todos os dias.

Aos meus amigos e amigas de Florianópolis e de São Paulo, os/as quais me deram forças durante a realização deste trabalho.

À minha orientadora professora Cristiane Jost, que mesmo na correria diária achou um tempo para junto a mim desenvolver este projeto. Obrigado por acreditar e confiar em mim.

Ao meu coorientador João Winiarski, obrigado pelo apoio diário, pelos conhecimentos passados e também por “puxar minha orelha”, sempre se preocupando com a minha formação acadêmica e profissional.

Aos colegas do GEPEEA e do LabEqS que me ajudaram e me proporcionaram momentos de muitas risadas; o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Eletrodos quimicamente modificados.....	13
2.1.1 A modificação de eletrodos de pasta de carbono	14
2.2 Materiais híbridos.....	14
2.2.1 Silsesquioxanos.....	15
2.3 Ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc)	16
2.4 A importância da detecção e quantificação de sulfonamidas	18
2.5 As diferentes técnicas de quantificação	20
2.5.1 Características das técnicas voltamétricas	21
3. OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo Geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Instrumentação.....	24
4.1.1 Célula eletroquímica.....	24
4.1.2 Equipamentos	24
4.2 Reagentes e soluções.....	25
4.2.1 Reagentes.....	25
4.2.2 Soluções	25
4.2.2.1 Solução tampão	26
4.3 Metodologia	26
4.3.1 Adsorção da ftalocianina ao cloreto de 3- <i>n</i> -propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano.....	26
4.3.2 Preparação dos eletrodos modificados.....	26
4.3.3 Medições voltamétricas	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 Caracterização do material Si3Pic ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc.....	28
5.2 Estudos eletroquímicos com a sulfanilamida	30
5.2.1 Análise comparativa entre os eletrodos.....	30
5.2.2 Estudo da velocidade de varredura	31
5.2.3 Otimização dos valores de pH.....	33
5.2.4 Seleção e otimização da técnica eletroanalítica	34
5.2.4.1 Seleção da técnica eletroanalítica.....	35
5.2.4.2 Otimização dos parâmetros da DPV	36
5.2.5 Curva de calibração.....	38
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	41
7. REFERÊNCIAS	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplo genérico da modificação do CPE.....	pág. 14
Figura 2 - Representação da estrutura molecular do híbrido silsesquioxano organofuncionalizado com 3-metilpiridina ($\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$).....	pág. 15
Figura 3 - Representação da estrutura da NiTsPc.....	pág. 17
Figura 4 - Estrutura molecular da 4-aminobenzenosulfonamida (SFL).....	pág. 18
Figura 5 - Silsesquioxano de cor branca (à esquerda) e à direita o sólido de cor azul-esverdeado impregnado com NiTsPc.....	pág. 26
Figura 6 - Espectro de absorção UV-Vis da solução de ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II).....	pág. 29
Figura 7 - Espectro de refletância difusa do $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ incorporado com ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II).....	pág. 29
Figura 8 - Voltamogramas cíclicos para a SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) para os eletrodos de trabalho; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	pág. 30
Figura 9 - (A) Voltamogramas cíclicos para SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) entre 10 a 100 mV s^{-1} ; (B) Gráfico de i_p vs. $v^{1/2}$; (C) Gráfico de $\log i$ vs. $\log v$	pág. 32
Figura 10 - Voltamogramas cíclicos para SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre o CPE/ $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ /NiTsPc. (A) valores de pH 2,0 a 6,0; (B) valores de pH 7,0 a 12,0; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	pág. 34
Figura 11 - Voltamogramas para a SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) sobre o CPE/ $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ /NiTsPc; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	pág. 35
Figura 12 - Gráficos e voltamogramas obtidos pela dependência da corrente resultante com a variação da(o) (A1/A2) velocidade de varredura; (B1/B2) amplitude; (C1/C2) tempo de pulso para a SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0).....	pág. 37
Figura 13 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial para (a) branco, SFL a (b) $14,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $28,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $42,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $56,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $70,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $84,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $98,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $112,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $126,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $140,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $154,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (m) $168,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (n) $182,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (o) $196,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0), velocidade de varredura 50 mV s^{-1} , amplitude 80 mV e tempo de pulso 3 ms. (B) Curva de calibração para a SFL.....	pág. 39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Origem dos reagentes utilizados.....	pág. 25
--	---------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Otimização dos parâmetros da técnica de DPV para a determinação da sulfanilamida.....pág. 38

Tabela 2 - Características analíticas da SFL para a curva de calibração.....pág. 40

LISTA DE ABREVIATURAS

- CE-MS - (do inglês *capillary electrophoresis – mass spectrometry*) - Eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas
- CMEs - (do inglês *chemically modified electrodes*) - Eletrodos quimicamente modificados
- CPE - (do inglês *carbon paste electrode*) - Eletrodo de pasta de carbono
- CPE/Si3Pic⁺Cl⁻ - Eletrodo de pasta de carbono modificado com 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano
- CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc - Eletrodo de pasta de carbono modificado com 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano e ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) tetrassódica
- CV - (do inglês *cyclic voltammetry*) - Voltametria cíclica
- DL₅₀ - Dose letal mediana
- DPV - (do inglês *differential pulse voltammetry*) - Voltametria de pulso diferencial
- HPLC - (do inglês *high-performance liquid chromatography*) - Cromatografia líquida de alta eficiência
- i_p - Corrente de pico
- LOD - (do inglês *limit of detection*) - Limite de detecção
- LOQ - (do inglês *limit of quantification*) - Limite de quantificação
- LSV - (do inglês *linear scan voltammetry*) – Voltametria de varredura linear
- NiTsPc - Ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) tetrassódica
- SCE - (do inglês *saturated calomel electrode*) - Eletrodo de calomelano saturado
- SFL - Sulfanilamida
- SFN - Sulfonamida
- Si3Pic⁺Cl⁻ - Cloreto de 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano
- SWV - (do inglês *square wave voltammetry*) - Voltametria de onda quadrada
- UE - União Europeia
- v - Velocidade de varredura

RESUMO

O trabalho aqui desenvolvido reporta a preparação, caracterização e utilização de eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados com cloreto de 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano e ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) para detecção de sulfanilamida. Análise comparativa por voltametria cíclica mostrou a melhor resposta com o uso do eletrodo modificado com o silsesquioxano e ftalocianina (CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc) em valor de potencial +0,93 V. O material utilizado na preparação dos eletrodos foi caracterizado por espectroscopia de refletância difusa, o que confirmou a interação entre o silsesquioxano e a ftalocianina pelas bandas B e Q do complexo. O estudo de velocidade de varredura demonstrou que o processo químico é irreversível e controlado por difusão. A análise de variação de pH ocorreu em solução tampão Britton-Robinson e o melhor sinal de corrente deu-se em pH 8,0. A técnica voltamétrica escolhida e otimizada para ser trabalhada foi a de pulso diferencial (DPV) devido à sua maior sensibilidade frente ao analito. A curva de calibração obtida para a sulfanilamida apresentou duas faixas lineares, sendo a primeira entre 14,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 126,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,99928$) e a segunda entre 126,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 196,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0,99731$). Os limites de detecção e quantificação foram, 4,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 14,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Desta maneira, o sensor proposto pode ser aplicado na determinação de sulfanilamida em amostras reais, assim como em matrizes medicinais, de alimento ou em águas superficiais contaminadas.

Palavras-chave: sulfanilamida, silsesquioxano, ftalocianina, voltametria.

1. INTRODUÇÃO

Os eletrodos quimicamente modificados (CMEs, do inglês *chemically modified electrodes*) são materiais condutores que podem ser fisicamente ou quimicamente alterados com espécies químicas. O eletrodo de pasta de carbono (CPE, do inglês *carbon paste electrode*) é muito versátil e facilmente preparado misturando-se pó de grafite com algum agente modificador e um aglutinante. Sendo assim, torna-se possível a construção de dispositivos com uma superfície eletroativa mais sensível e seletiva na detecção e quantificação de substâncias de interesse.

Os materiais híbridos orgânico-inorgânicos, amplamente utilizados na modificação de eletrodos, são caracterizados pela união de espécies químicas com propriedades diferentes que, quando juntas, proporcionam uma melhora na qualidade do sinal analítico. Dentre os inúmeros agentes modificadores, os silsesquioxanos vêm sendo reportados na literatura como materiais promissores devido à versatilidade de uso, assim como para troca iônica e na adsorção de íons.

Compostos eletrocatalíticos são espécies químicas que podem ser utilizadas em CMEs garantindo que as reações eletroquímicas processem-se com velocidades diferentes em um dado potencial, diminuindo a energia envolvida e aumentando a velocidade do processo. Dentre os vários tipos de compostos, complexos inorgânicos são utilizados para tal fim já que são estruturas estáveis fornecendo sítios ativos para que as reações ocorram.

A união de agentes modificadores e eletrocatalíticos pode auxiliar na detecção de inúmeras substâncias. A 4-aminobenzenosulfonamida ($C_6H_8N_2O_2S$), comumente chamada de sulfanilamida (SFL), é uma sulfonamida (SFN) de caráter antibacteriano e utilizada no tratamento de algumas infecções, tais como urinárias, oculares e auditivas. Entretanto a alta concentração desta substância pode causar problemas nos aparelhos excretor e digestório, além de alergias, quando em excesso no organismo. No ambiente, a SFL pode sofrer o processo de bioacumulação, aumentando a sua toxicidade para humanos e animais.

Frente às técnicas eletroanalíticas, as quais podem ser aplicadas para a detecção da SFL, as voltamétricas são amplamente utilizadas, pois são consideradas de baixo custo em relação à instrumentação requerida, portáteis, de simples operacionalidade, sensíveis e seletivas. Uma das grandes vantagens na utilização das técnicas voltamétricas consiste na possibilidade de realizar medidas

diretamente nas amostras sem prévia separação. Materiais coloridos e dispersões coloidais também podem ser analisados, já que estas características não afetam as medições. Sendo assim, a junção dos CMEs à voltametria apresenta-se como uma proposta para a identificação de inúmeras substâncias, facilitando o processo analítico.

Desta maneira, pretende-se preparar um novo eletrodo de pasta de carbono modificado com cloreto de 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano ($\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$) e ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) tetrassódica (NiTsPc) e avaliar sua resposta analítica em diferentes valores de pH, velocidades de varredura e por técnicas de voltametria cíclica, linear, de pulso diferencial e de onda quadrada. Com a parametrização das características desejadas, busca-se melhorar a sensibilidade e reprodutibilidade na detecção e quantificação da 4-aminobenzenosulfonamida, tornando este trabalho precursor para futuras aplicações em amostras reais, assim como em matrizes farmacêuticas, de fluido biológico, de alimentos e até mesmo em águas contaminadas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Eletrodos quimicamente modificados

O termo eletrodo quimicamente modificado foi introduzido em 1975 por Murray e colaboradores¹ ao designar eletrodos com espécies químicas ativas, imobilizadas sobre uma superfície, com o objetivo de preestabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. Para que a modificação de um eletrodo seja vantajosa, a sensibilidade da detecção de um analito deve ser aumentada e o substrato empregado deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e adequadas ao método selecionado.¹

As modificações podem ser realizadas a partir de substratos adsorvidos na superfície de eletrodos e com funcionalidades desejadas, ligação covalente de componentes à superfície, recobrimento do eletrodo com filmes poliméricos ou até mesmo com imobilização de enzimas. Os CMEs podem favorecer o aumento de sensibilidade e seletividade do analito em questão.¹

Resultados que garantiram a melhor sensibilidade com a modificação de eletrodos foram retratados por Caldas *et al.*² por meio da modificação da superfície do CPE com silsesquioxano iônico disperso em forma de filme para a identificação de metil paration, um inseticida agrícola. As análises eletroquímicas por voltametria cíclica (CV, do inglês *cyclic voltammetry*) e por voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *differential pulse voltammetry*) com o eletrodo modificado geraram uma resposta linear para o metil paration em concentrações entre $1,25 \cdot 10^{-7}$ até $2,56 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹. Já para CPE não modificado, este intervalo encontrou-se entre $1,0 \cdot 10^{-6}$ e $6,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹. O limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) para o CPE modificado foi de $1,3 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹, valor aproximadamente quatro vezes menor do que para o CPE não modificado.

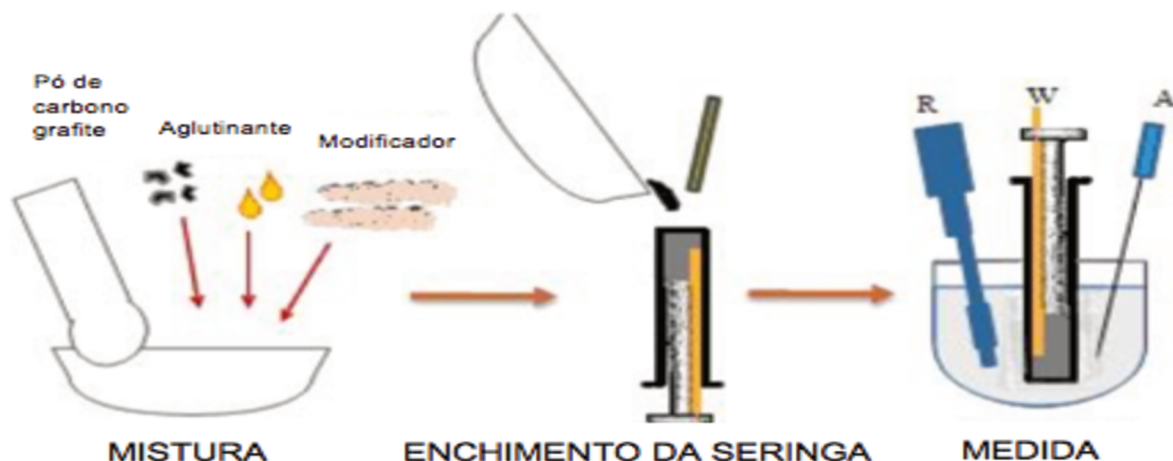
Outro exemplo é a validação de um método para a rápida detecção e quantificação de resíduos de sulfonamidas em amostras de leite utilizando-se eletrodos de carbono vítreo modificados com nanotubos de carbono de paredes múltiplas. Ao comparar o eletrodo modificado com o não modificado, aquele apresentou uma sensibilidade três vezes maior. Segundo os pesquisadores, a União Europeia (UE) estabelece um limite de $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ de SFN em leite e o eletrodo modificado conseguiu abranger uma boa resposta analítica entre concentrações de

0,05 e 0,09 mg mL⁻¹ de SFN nas amostras, o que o torna útil para as análises requeridas.³

2.1.1 A modificação de eletrodos de pasta de carbono

A pasta de carbono consiste em uma mistura manual de grafite em pó, de um agente modificador e de um aglutinante imiscível em contato com soluções aquosas. Na Figura 1 pode-se visualizar a fabricação de um CPE. Uma das principais vantagens de se utilizar a pasta de carbono é que há a possibilidade de modificação interna do material.⁴ Sendo assim, é viável a imobilização de enzimas, cofatores (substâncias essenciais para a atividade de uma enzima), mediadores e estabilizadores. As análises eletroquímicas com pasta de carbono oferecem versatilidade, baixa corrente de fundo, baixo ruído, baixo custo, modificação conveniente e facilidade de renovação da superfície.⁴ Desta maneira, a junção do CPE com algum agente modificador pode se dar de forma interessante para análises eletroquímicas.

Figura 1 - Exemplo genérico da modificação do CPE.



Fonte: Adaptação de Vasjari *et al.*⁵

2.2 Materiais híbridos

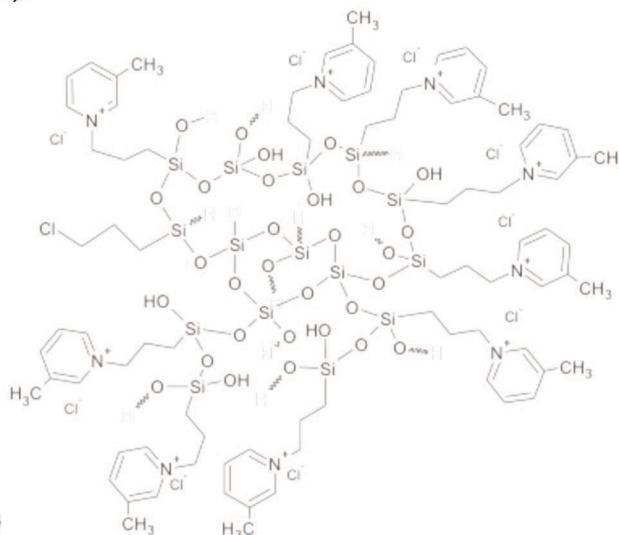
Materiais híbridos são classificados como a combinação de dois ou mais materiais que fornecem propriedades complementares, as quais não são encontradas em uma única substância.⁶ Os híbridos orgânico-inorgânicos são de

grande interesse em aplicações comerciais devido às suas propriedades mecânicas, ópticas e térmicas, estas que combinam estabilidade térmica e química dos materiais inorgânicos com a processabilidade e flexibilidade dos compostos e polímeros orgânicos.⁶

2.2.1 Silsesquioxanos

Dentre os materiais híbridos orgânico-inorgânicos, os derivados da sílica têm despertado interesses devido aos seus múltiplos usos em HPLC (do inglês *high-performance liquid chromatography*), na pré-concentração e separação de reações de troca-iônica e como substrato na preparação de sensores eletroquímicos.⁷ Os silsesquioxanos são polímeros íon-trocadores, com uma estrutura molecular rígida e aplicados na adsorção de íons metálicos^{8,9} e de corantes em soluções aquosas^{10,11}, além da sua utilização na confecção de membranas íon-seletivas para eletrodos.^{12,13} A síntese dos silsesquioxanos é realizada através do método sol-gel, o qual se baseia na reação de hidrólise e policondensação de alcoxissilanos funcionalizados na presença de tetraalquilortossilicatos, obtendo-se uma estrutura característica de silsesquioxano.⁷ Magosso *et al.*⁷ sintetizaram dois silsesquioxanos organofuncionalizados com os grupamentos 3-metilpiridina, como mostrado na Figura 2, e 4-metilpiridina, os quais se mostraram potenciais adsorventes de Zn^{2+} e Cu^{2+} em meios aquoso e etanólico.

Figura 2 - Representação da estrutura molecular do híbrido silsesquioxano organofuncionalizado com 3-metilpiridina ($Si_3Pic^+Cl^-$).



Fonte: Magosso, 2008.⁸

No trabalho de Menezes *et al.*¹⁵, dois silsesquioxanos iônicos foram utilizados como estabilizantes na síntese de nanopartículas de ouro. As nanopartículas foram sintetizadas com os polímeros e imobilizadas sobre Al/SiO₂ para posterior modificação de eletrodos de pasta de carbono para oxidação de nitrito. Ambos os eletrodos modificados apresentaram faixas lineares de trabalho entre $7,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $7,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os valores de LOD foram de $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $3,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, ambos limites de detecção mais baixos quando comparados ao de um CPE não modificado.

Schneid *et al.*¹⁶ sintetizaram nanopartículas de prata em meio aquoso na presença de um estabilizante do tipo silsesquioxano. O resultado foi a formação de nanopartículas majoritariamente esféricas, com tamanho inferior a 10 nm e de baixa polidispersidade. Testes microbiológicos mostraram alto efeito bactericida contra *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* graças à estabilidade e solubilidade em meio aquoso das nanopartículas. O efeito sinérgico observado utilizando-se este material garantiu a estabilização da nanopartícula metálica e reduziu a citotoxicidade do metal frente às células testadas *in vitro*.

2.3 Ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc)

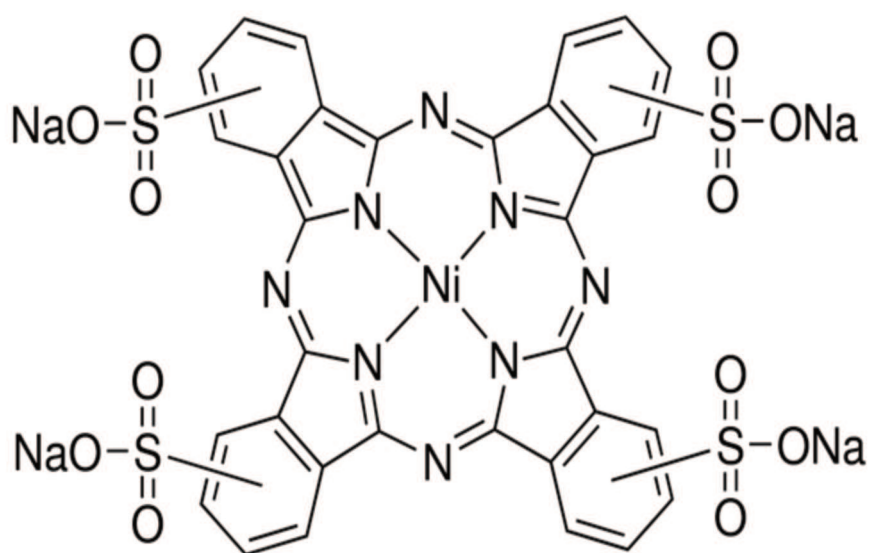
Dentre as variadas substâncias com propriedades eletrocatalíticas, a NiTsPc, mostrada sua estrutura na Figura 3, é amplamente utilizada em análises eletroquímicas pois apresenta a capacidade de reduzir o potencial das reações redox e oferece boa estabilidade térmica e química. Este composto é formado por macrociclos conjugados que exibem cores fortes e que podem ser detectados por espectroscopia UV-Vis. As estruturas das ftalocianinas podem formar complexos com inúmeros metais, tais como níquel e cobalto, apresentando propriedades ópticas, eletrônicas, eletroquímicas e catalíticas.¹⁷

Karuppiah *et al.*¹⁸ funcionalizaram um eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e NiTsPc para quantificar dopamina. De acordo com os autores, a transferência de elétrons dos nanotubos de carbono para os ligantes porfirínicos da NiTsPc diminuiu o *gap* de energia entre o orbital ocupado de maior energia (HOMO) e o desocupado de menor energia (LUMO), intensificando as ligações π - π e melhorando o sinal analítico obtido. Comparando o eletrodo completamente modificado com o que continha somente nanotubos de carbono, a

resposta frente ao analito revelou boa linearidade entre concentração de dopamina e corrente produzida, no intervalo de $2,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ à $1,384 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e com LOD de $1,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$. As análises por CV à 50 mV s^{-1} , em $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7) e com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de dopamina indicou pico de corrente mais definido e aproximadamente seis vezes mais intenso do que o CPE sem modificação e quatro vezes mais intenso do que o CPE modificado somente com os nanotubos de carbono.

Pontié *et al.*¹⁹ desenvolveram um eletrodo de carbono vítreo utilizado na oxidação de compostos nitrofenólicos. O problema encontrado pelos cientistas foi a passivação do eletrodo pelos próprios compostos gerados durante o processo de oxidação dos nitrofenóis. Sendo assim, a equipe desenvolveu uma técnica para a geração de monômeros solúveis do p-aminofenol. Os monômeros formados do p-aminofenol foram oxidados ao subproduto benzoquinona, este que não se depositou sobre o eletrodo. Adicionalmente, os pesquisadores modificaram o eletrodo com NiTsPc e foi observado um aumento na sensibilidade do processo em até duas vezes, sem ocorrer a passivação do eletrodo e com um deslocamento do pico de potencial de $+1,00 \text{ V}$ para $+0,84 \text{ V}$.

Figura 3 - Representação da estrutura da NiTsPc.



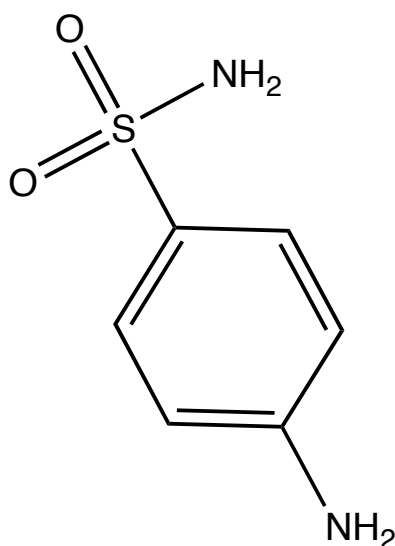
Fonte: Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/24856614>>.²⁰

2.4 A importância da detecção e quantificação de sulfonamidas

A humanidade vive em uma época onde o seu crescimento populacional vem em concomitância à sua necessidade de se produzir mais alimentos, remédios, bens de consumo cada vez mais tecnológicos e até mesmo serviços diferenciados, os quais garantem o que muitas pessoas almejam: uma vida saudável e o mais longínqua possível. Dentre os produtos que garantem a sobrevivência e longevidade das pessoas, os alimentos e medicamentos tomam grande destaque dentro deste espectro de exigências.²¹

Ao se tratar de medicamentos, alguns deles podem trazer complicações biológicas com o seu uso intensivo ou prolongado. A 4-aminobenzenosulfonamida (Figura 4) é um composto de uso médico e com propriedades antimicrobianas. A molécula foi sintetizada em 1908 por P. Gelmo e utilizada como agente quimioterápico em 1935 por G. Domagk, J. Trefouel e T. Trefouel.²² De uma forma geral, a SFL impede a síntese do ácido fólico, o qual é importante para o crescimento de bactérias. Mesmo que muitas outras moléculas tenham sido sintetizadas para substituir o uso da SFL, esta continua sendo utilizada em países em processo de desenvolvimento.²³

Figura 4 - Estrutura molecular da 4-aminobenzenosulfonamida (SFL).



Fonte: Disponível em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5142.html>>.²⁴

A SFL é aplicada no tratamento de diversos tipos de infecções, assim como urinárias, vaginais e de garganta. Uma outra aplicação muito comum é o seu uso na medicina veterinária para doenças causadas por bactérias e protozoários em gados. Resíduos de SFL têm sido detectados em concentrações significativas em produtos animais e vegetais e também na fauna aquática, visto que apresenta alta persistência em meio aquoso e é de fácil bioacumulação.²⁵ A SFL é identificada como o principal produto de degradação da droga sulfametoxazol (comercialmente conhecida como Bactrim[®] e Trimetoprim[®]) e inclusive é o composto do medicamento utilizado para o tratamento de ulcerações e lesões dérmicas comercialmente chamado de Paraqueimol[®].²⁶

Mediante ao seu amplo uso, a 4-aminobenzenosulfonamida em baixas concentrações não oferece perigo a saúde humana, porém em altas concentrações pode originar problemas no sistema digestório, náuseas, alergias na pele, estomatites, hepatotoxicidade e toxicidade renal.^{27,28} De acordo com o Instituto Nacional da Saúde dos Estados Unidos²⁸ ainda não existem testes de tolerância máxima de SFL em humanos para averiguar o seu efeito e de seus derivados. Entretanto, de acordo com a Livraria Nacional de Medicina dos Estados Unidos²⁹ testes em animais já foram realizados mostrando valores de dose letal mediana (DL₅₀) de sulfonamidas. Em relação à SFL especificamente, o valor para testes em camundongos mostrou um intervalo de DL₅₀ entre 3.700 a 4.200 mg kg⁻¹. Segundo informações disponibilizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a comercialização de medicamentos contendo sulfonamidas é permitido, contudo recomenda-se, por exemplo, a administração via oral do Trimetoprim[®] de 6 a 20 mg/kg/dia para crianças e de 160 a 800 mg/kg/dia para adultos. Para via intravenosa não se deve ultrapassar 6 a 20 mg/kg/dia para crianças e de 10 a 20 mg/kg/dia para adultos, com sérios efeitos colaterais acima dos valores prescritos.³⁰

Países pertencentes à UE já adotam valores restritos de SFL e derivados de no máximo 100 µg kg⁻¹ em alimentos de origem animal. Na Polônia, a concentração máxima permitida é de 0,5 mg kg⁻¹ em frutas e vegetais. Testes realizados em amostras de mel poloneses mostraram a presença de derivados de SFN e 10% delas foram reprovadas por apresentarem valores acima do permitido pela legislação.²⁷

2.5 As diferentes técnicas de quantificação

Dentre as inúmeras técnicas de detecção e quantificação das sulfonamidas e derivados, tais como cromatografia³¹, eletroforese capilar³², entre outras, as eletroanalíticas mostram-se como uma ferramenta de alto potencial. Conforme trabalho de Malintan *et al.*³¹, a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada à espectroscopia ultravioleta (UV) foi utilizada para a detecção de sulfonamidas em amostras de água provenientes da cultura de suínos. No caso da sulfanilamida, a curva de calibração apresentou-se linear e o limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) de $2,9 \cdot 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$. Entretanto, tanto para a curva de calibração quanto para o estudo nas amostras houve a necessidade de uma pré-preparação com metanol, ácido clorídrico e amônia, além de aquecimento. O estudo da fase móvel contou com mistura de ácido acético e acetonitrila em grandes volumes, o que gerou uma quantidade alta de solventes contaminados após a análise.

Santos *et al.*³² quantificaram a presença de sulfonamidas em amostras de leite pela técnica de eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas (CE-MS, do inglês *capillary electrophoresis – mass spectrometry*). Os resultados obtidos foram na ordem de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com adição de metanol e ácido fórmico e parametrização de vazão, pressão e temperatura. As técnicas de HPLC e CE-MS são mais complexas a nível de parametrização, uso de grandes volumes de solventes e de custo elevado com relação à instrumentação. Comparando aquelas técnicas com as às eletroanalíticas, estas apresentam sensibilidade e seletividade similares à cromatografia e eletroforese, por exemplo, porém com operacionalidade mais simples, portabilidade e baixo custo instrumental.

Dentre as técnicas eletroanalíticas, a mais utilizada é a voltametria, a qual se baseia na aplicação crescente de um potencial controlado por um determinado tempo sobre um conjunto de três eletrodos, obtendo-se uma resposta de corrente medida numa cela eletroquímica. O objetivo é causar uma completa polarização do meio, no qual se espera que a velocidade de oxidação ou de redução do analito seja limitada pela velocidade de transferência de massa do analito para a superfície do eletrodo.³³ Os eletrodos constituintes são o de trabalho (onde ocorre a reação *redox*), o contra-eletrodo (ex. fios de Ag, Au ou Pt) o qual mede a corrente elétrica produzida, e o de referência, tais como de calomelano saturado (SCE) ou

prata/cloreto de prata (Ag/AgCl), que fornecem um potencial elétrico conhecido e constante sem sofrer polarização.³⁴ À célula eletroquímica também é adicionada uma solução de eletrólito suporte, a qual deve apresentar alta solubilidade, alto grau de dissociação e ser estável química e eletroquimicamente no solvente a ser empregado.³⁵ As principais funções do eletrólito suporte são reduzir a resistência do meio, eliminar a contribuição do efeito de migração, manter a viscosidade da solução, aumentar a sua condutividade e, até mesmo, atuar como solução tampão.^{34,35}

2.5.1 Características das técnicas voltamétricas

Dentre os tipos de técnicas voltamétricas, três delas merecem atenção por serem muito conhecidas e estudadas. A voltametria cíclica normalmente é a primeira a ser aplicada, pois é possível identificar os potenciais de oxidação e redução do analito, avaliar a reversibilidade da reação, além da sua cinética. Entretanto, a técnica tem baixa sensibilidade.³⁵

Já a voltametria de pulso diferencial trabalha com um aumento progressivo de pulsos de potencial periodicamente, sendo a corrente medida antes e depois de cada aplicação de pulso. A soma das duas correntes produz um sinal pronunciado de corrente de pico, a qual é proporcional à concentração do analito, aumentando a sensibilidade e possibilitando detecções e quantificações na ordem de 10^{-7} e 10^{-8} mol L⁻¹.³³ De acordo com o trabalho de Tadi *et al.*²⁵, foi possível detectar SFL utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com pirrol. A técnica de DPV proporcionou um valor de LOD em torno de 10^{-8} mol L⁻¹ com duas faixas de linearidade, sendo elas entre $5,0 \cdot 10^{-8}$ à $1,1 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $1,1 \cdot 10^{-6}$ à $48 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹. Moléculas derivadas das sulfonamidas foram adicionadas e mesmo em altas concentrações estas não interferiram na detecção da SFL, mostrando uma ótima seletividade do eletrodo modificado frente à técnica de DPV.

A voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*) também funciona em forma de pulsos, porém é mais rápida, já que os pulsos aplicados encontram-se em torno de 5 ms. Outra vantagem desta técnica é que o decaimento do valor da corrente capacitiva (proveniente do processo de carregamento da dupla-camada elétrica na superfície do eletrodo) é muito mais rápido do que o da corrente faradaica (proveniente da reação *redox*) durante as

análises.³⁵ Souza *et al.*³⁷ determinaram derivados de SFN em fármacos através de eletrodo de diamante dopado com boro. Os picos irreversíveis de oxidação ficaram próximos à +1,1 V e as curvas de calibração abrangeram intervalos de $8,01 \cdot 10^{-6}$ a $1,19 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ para a sulfadiazina e de $6,10 \cdot 10^{-6}$ a $6,01 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ para o sulfametoxazol. Os valores encontrados de LOD foram $2,19 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ para a sulfadiazina e $1,15 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ para o sulfametoxazol. Comparando a análise por SWV com HPLC, aquela mostrou-se mais precisa e com erros relativos entre as duas técnicas de -4,31% para a sulfadiazina e de -0,79% para a sulfametoxazol.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Modificar eletrodos de pasta de carbono com cloreto de 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano com e sem adição de ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) tetrassódica para a detecção e quantificação de sulfanilamida através de técnicas voltamétricas.

3.2 Objetivos específicos

- construir eletrodos quimicamente modificados com Si3Pic⁺Cl⁻ e NiTsPc;
- estudar o comportamento eletroquímico da SFL frente aos eletrodos com e sem modificação por meio de técnicas voltamétricas;
- calcular a área eletroativa dos eletrodos modificados;
- investigar e escolher o melhor valor de pH onde a reação apresente compromisso entre intensidade de corrente, menor potencial e qualidade do sinal analítico para a SFL;
- selecionar a técnica eletroanalítica a ser utilizada, dentre elas LSV (do inglês *linear scan voltammetry*), DPV ou SWV;
- otimizar os parâmetros da técnica escolhida;
- avaliar as características analíticas para a metodologia proposta através da construção de curva de calibração e cálculo dos valores de LOD e LOQ.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

4.1.1 Célula eletroquímica

Todas as leituras foram realizadas em uma célula eletroquímica com volume total de 10 mL e possibilidade de inserção de três eletrodos. O eletrodo de referência foi do tipo Ag/AgCl, KCl (3,0 mol L⁻¹), contra-eletrodo de fio de platina (Pt) e os eletrodos de trabalho utilizados foram os com e sem modificação a partir de carbono grafite.

4.1.2 Equipamentos

As análises voltamétricas foram realizadas com o auxílio de um potenciostato/galvanostato PalmSens (Palm Instruments BV – Holanda) conectado a um computador com o *software* PStace (versão 4.8.1). A partir deste sistema conectado por fios aos eletrodos da célula eletroquímica foi possível obter os respectivos sinais da SFL. Os dados numéricos foram tratados no *software* Origin (versão 8.5).

As verificações de pH foram realizadas com o uso de um conjunto medidor e eletrodo de vidro combinado da marca Ohaus (Modelo ST3100-F), após calibração.

A agitação das soluções na célula eletroquímica foram feitas por um agitador magnético.

As análises espectrofotométricas foram realizadas no equipamento PerkinElmer LAMBDA 750 utilizando-se o *software* PerkinElmer UV WinLab. Para a medida de absorvância foi utilizada uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Já para o modo de refletância difusa, fez-se uso de uma esfera Spectralon(R)[®] integradora para amostras sólidas; a pastilha sólida foi preparada com Si₃Pic⁺Cl⁻/NiTsPc e KBr, sendo as medidas realizadas em modo de refletância.

4.2 Reagentes e soluções

4.2.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste trabalho não foram purificados previamente e estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 - Origem dos reagentes utilizados.

REAGENTES	FÓRMULA	MARCA	PUREZA
Ácido acético	$C_2H_4O_2$	Vetec	$\geq 99,7\%$
Ácido bórico	H_3BO_3	Acros Organics	$\geq 99,5\%$
Ácido fosfórico	H_3PO_4	Grupo Química	$\geq 85\%$ ^b
Carbono grafite	C	Sigma-Aldrich	$\geq 99,99\%$
Cloreto de 3- <i>n</i> -propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano ^a	$Si_3Pic^+Cl^-$	-----	-----
Ferricianeto de potássio	$K_3Fe(CN)_6$	Vetec	$\geq 98,5\%$
Ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) tetrassódica (NiTsPc)	$C_{32}H_{12}N_8Na_4NiO_{12}S_4$	Sigma-Aldrich	$\geq 98\%$
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	$\geq 99\%$
Nitrato de potássio	KNO_3	Isofar	$\geq 99\%$
Nujol (óleo mineral)	-----	Sigma-Aldrich	-----
Sulfanilamida	$C_6H_8N_2O_2S$	Sigma-Aldrich	$\geq 99\%$

^a reagente cedido pela profa. Dr.^a Hérica Magosso do departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

^b teor dissolvido em água.

4.2.2 Soluções

As soluções foram preparadas a partir dos reagentes e a água utilizada para tal fim foi do tipo ultrapura em sistema Milli-Q obtido por Millipore (Bedford, MA, USA) com resistividade de 18,2 MΩ.cm.

4.2.2.1 Solução tampão

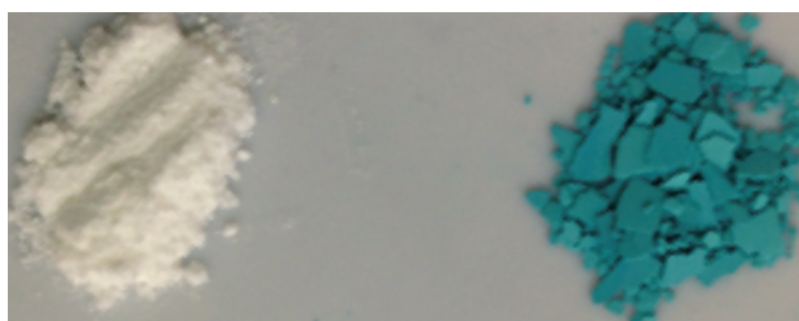
As soluções tampão Britton-Robinson (B-R) foram preparadas a partir da mistura de ácidos acético, bórico e fosfórico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e o valor de pH ajustado com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Todas as soluções tampão foram mantidas sob refrigeração à 5°C e mantiveram-se estáveis por até 90 dias.

4.3 Metodologia

4.3.1 Adsorção da ftalocianina ao cloreto de 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano

Uma massa de 3 g do silsesquioxano foi colocada em contato durante 4 horas e sob agitação com a solução aquosa de ftalocianina de concentração 4 mg L^{-1} para que ocorresse a adsorção no material sólido. Posteriormente, foi feita uma lavagem com água para retirada do excesso de NiTsPc. O resultado é mostrado na Figura 5, onde se verifica à esquerda o silsesquioxano de cor branca antes de sofrer adsorção da solução de ftalocianina e à direita o sólido de cor azul-esverdeado impregnado com NiTsPc.

Figura 5 - Silsesquioxano de cor branca (à esquerda) e à direita o sólido de cor azul-esverdeado impregnado com NiTsPc.



Fonte. O autor.

4.3.2 Preparação dos eletrodos modificados

O CPE sem modificação foi construído macerando-se manualmente 200 mg de carbono grafite por 10 minutos, com posterior adição de óleo mineral e seguido

de maceração por mais 20 minutos. A pasta foi introduzida em uma seringa plástica juntamente com um fio de cobre para obtenção do contato elétrico. O eletrodo de pasta de carbono modificado com 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano (CPE/Si3Pic⁺Cl⁻) e o modificado com 3-*n*-propil-(3-metilpiridínio)silsesquioxano e ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) tetrassódica (CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc) foram construídos da mesma maneira que o CPE sem modificação, porém na proporção 50:50 (m/m). Entre as medidas voltamétricas os eletrodos foram polidos sobre uma folha de papel levemente abrasivo para que as superfícies pudessem ser renovadas.

4.3.3 Medições voltamétricas

Todas as medidas foram realizadas em 10 mL de solução tampão B-R entre as faixas de pH 2,0 a 12,0, à temperatura ambiente e os potenciais medidos vs. Ag/AgCl, KCl (3,0 mol L⁻¹). A faixa investigada nas medidas voltamétricas foi de +0,40 a +1,20 V utilizando as técnicas de CV, DPV, SWV e LSV. Para a construção da curva de calibração, adições sucessivas da solução de sulfanilamida foram realizadas com uma micropipeta. Após cada adição, a solução na célula eletroquímica era agitada e os voltamogramas registrados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do material $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$

A caracterização do $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ já é conhecida, e o mesmo já foi aplicado na modificação de eletrodos e na determinação de nitrito.³⁸ Os silsesquioxanos iônicos são muito utilizados como adsorventes devido à capacidade de troca iônica que estes materiais apresentam. Entretanto, a adsorção de complexos inorgânicos no material ainda não foi relatada. De acordo com a Figura 2, pode-se visualizar que o $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ possui cargas positivas incorporadas por toda a sua superfície. Dessa maneira, torna-se um grande atrativo para a imobilização de espécies aniônicas através da interação eletrostática.

A Figura 6 mostra o espectro de absorção UV-Vis da solução de ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II). Pode-se verificar a banda de maior energia em 335 nm atribuída à banda B ou Soret relacionada à transição $\pi-\pi^*$ do macrociclo das porfirinas presente na estrutura das ftalocianinas, associada à transição dos orbitais $a_{2u} \rightarrow e_g$. A banda Q verificada em 620 e 675 nm está relacionada às espécies diméricas e monoméricas presentes em solução, respectivamente. Estas transições são atribuídas aos orbitais HOMO e LUMO devido às interações entre o níquel e os ligantes axiais presentes na estrutura da ftalocianina, o qual representa a transição do orbital a_{1u} para os orbitais e_g .³⁹⁻⁴¹

No espectro de refletância difusa mostrado na Figura 7, pode-se verificar que a ftalocianina foi incorporada ao $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ devido às mesmas bandas da NiTsPc (banda B e banda Q) presentes em solução aparecerem no espectro de refletância do material sólido. Além disso é visualizada uma banda em 287 nm referente à transição $\pi-\pi^*$ do anel piridínico presente na estrutura do silsesquioxano. Esta banda é geralmente encontrada na região de 260 nm.⁴² Devido à interação eletrostática do anel piridínico com os grupos sulfônicos da ftalocianina houve um deslocamento batocrômico para 287 nm, confirmando a interação dos dois materiais.

Figura 6 - Espectro de absorção UV-Vis da solução de ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II).

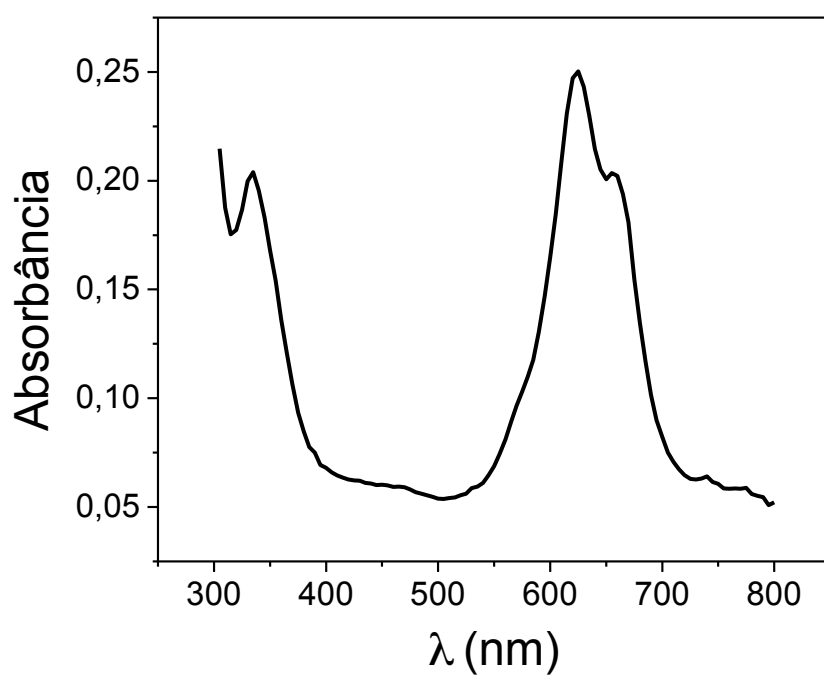
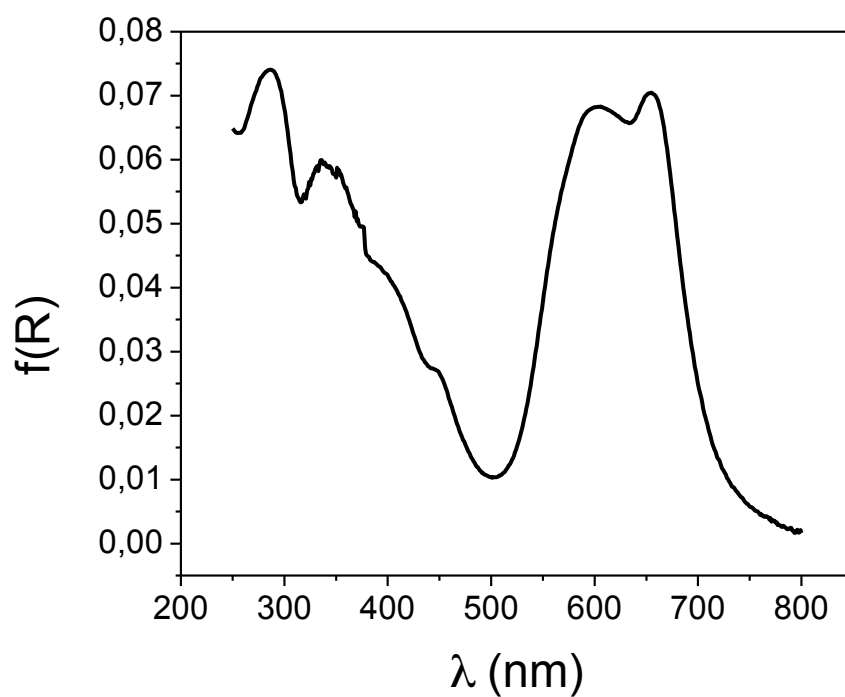


Figura 7 - Espectro de refletância difusa do Si3Pic⁺Cl⁻ incorporado com ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II).



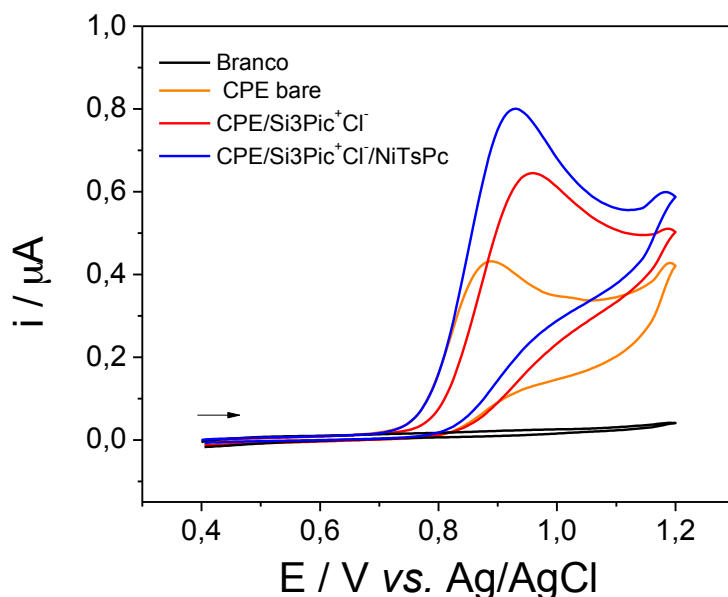
5.2 Estudos eletroquímicos com a sulfanilamida

5.2.1 Análise comparativa entre os eletrodos

Previamente, medidas por CV foram realizadas para averiguar o comportamento da SFL sobre a superfície dos eletrodos de trabalho, buscando uma melhor resposta voltamétrica de corrente e potencial. A Figura 8 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a sulfanilamida $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) com os eletrodos de pasta de carbono (CPE), modificado com $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ ($\text{CPE/Si3Pic}^+\text{Cl}^-$) e modificado com NiTsPc ($\text{CPE/Si3Pic}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$). As medidas foram feitas entre +0,40 e +1,20 V numa velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Os valores de corrente e potencial de oxidação obtidos foram: $0,43 \mu\text{A}$ e +0,89 V para o CPE; $0,64 \mu\text{A}$ e +0,96 V para o $\text{CPE/Si3Pic}^+\text{Cl}^-$; $0,80 \mu\text{A}$ e +0,93 V para o $\text{CPE/Si3Pic}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$. Os voltamogramas mostram que a resposta de corrente para o eletrodo modificado com a ftalocianina é duas vezes maior que a do eletrodo não modificado, apesar do potencial ter se deslocando para valores mais positivos. Não foram observados picos de redução no sentido de varredura inversa, indicando um processo irreversível.

Figura 8 - Voltamogramas cíclicos para a SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) para os eletrodos de trabalho; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Sobre a superfície do CPE/Si3Pic⁺Cl⁻ também se verifica um aumento do sinal. Isto pode ser atribuído às cargas positivas presentes no material, as quais ajudam a catalisar a reação de oxidação da SFL, porém num potencial mais positivo. Uma provável explicação para a melhor resposta ter-se dado no CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc é devida à interação eletrostática entre o grupamento 3-piridínio do silsesquioxano catiônico e os grupos sulfônicos do complexo inorgânico, o que facilitaria a transferência eletrônica e proporcionaria um melhor sinal de corrente.

A área eletroativa dos eletrodos foi estudada, utilizando-se da equação matemática de Randles–Sevcik (Equação 1), sendo i_p a corrente de pico em Ampère, n o número de mols de elétrons envolvidos por mol de analito, A a área eletroativa do eletrodo em cm², D o coeficiente de difusão em cm s⁻¹, c a concentração em mol cm⁻³ e v a velocidade de variação do potencial em V s⁻¹.³³ As medidas foram realizadas por CV com solução de K₃Fe(CN)₆ 0,1 mol L⁻¹ em meio contendo KNO₃ 1,0 mol L⁻¹ como eletrólito suporte.

$$i_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A c D^{1/2} v^{1/2} \quad (1)$$

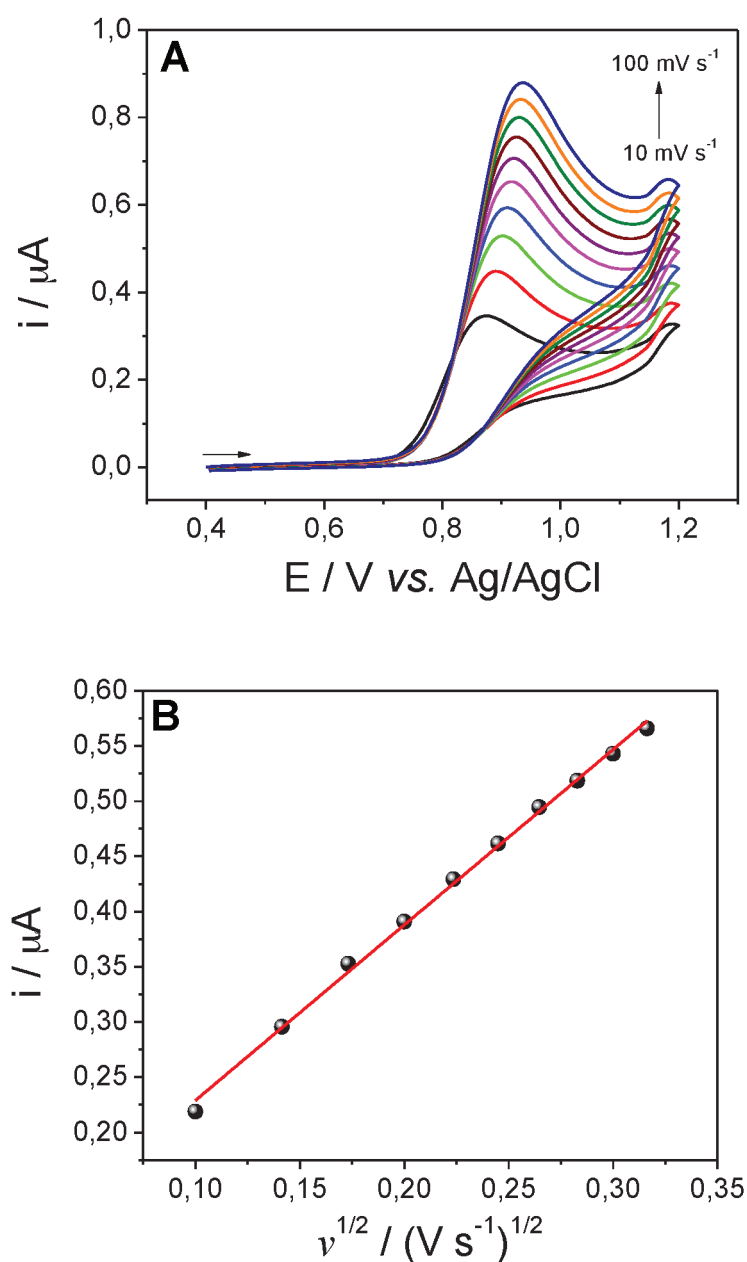
Os resultados obtidos foram de 0,0114; 0,0125 e 0,0156 cm² para os eletrodos de CPE, CPE/Si3Pic⁺Cl⁻ e CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc, respectivamente. Os valores encontrados mostraram uma gradativa melhora da área eletroativa conforme foi-se modificando o eletrodo de trabalho. A área do eletrodo modificado com ftalocianina foi a maior, o que corrobora com o sinal de corrente obtido, conforme Figura 8. Devido aos resultados obtidos, optou-se por trabalhar com o CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc para os estudos posteriores e curva de calibração.

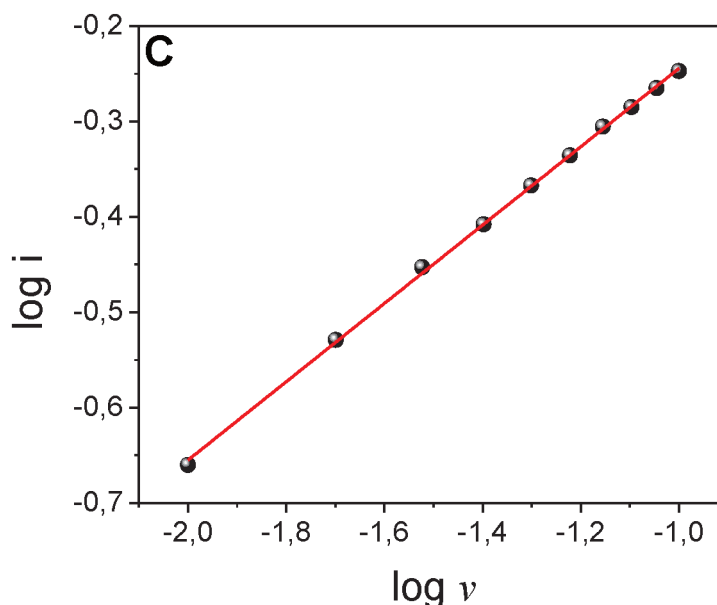
5.2.2 Estudo da velocidade de varredura

O efeito da velocidade de varredura sobre o perfil voltamétrico para a SFL 6,9.10⁻⁵ mol L⁻¹ na superfície do CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc foi estudado em tampão B-R (pH 8,0) em um intervalo de 10 a 100 mV s⁻¹ conforme Figura 9A. Os potenciais de oxidação mostraram um deslocamento para valores mais positivos conforme aumentava-se a velocidade de varredura, indicando o comportamento característico de reações irreversíveis.³⁶ Já na Figura 9B, foi investigada a relação entre as correntes de pico e as velocidades de varredura. Uma curva linear ($R = 0,99869$) foi

obtida ao se relacionar os valores de i_p com a raiz quadrada da velocidade, indicando que a reação de oxidação sobre a superfície do eletrodo consiste um processo controlado por difusão.³⁶ Ademais, o gráfico $\log i$ vs. $\log v$ (Figura 9C) - ($R = 0,99966$) foi construído, obtendo-se um coeficiente angular no valor de 0,41, o qual é próximo de 0,5, confirmando o processo difusional.³⁶

Figura 9 - (A) Voltamogramas cíclicos para SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) entre 10 a 100 mV s^{-1} ; (B) Gráfico de i_p vs. $v^{1/2}$; (C) Gráfico de $\log i$ vs. $\log v$.

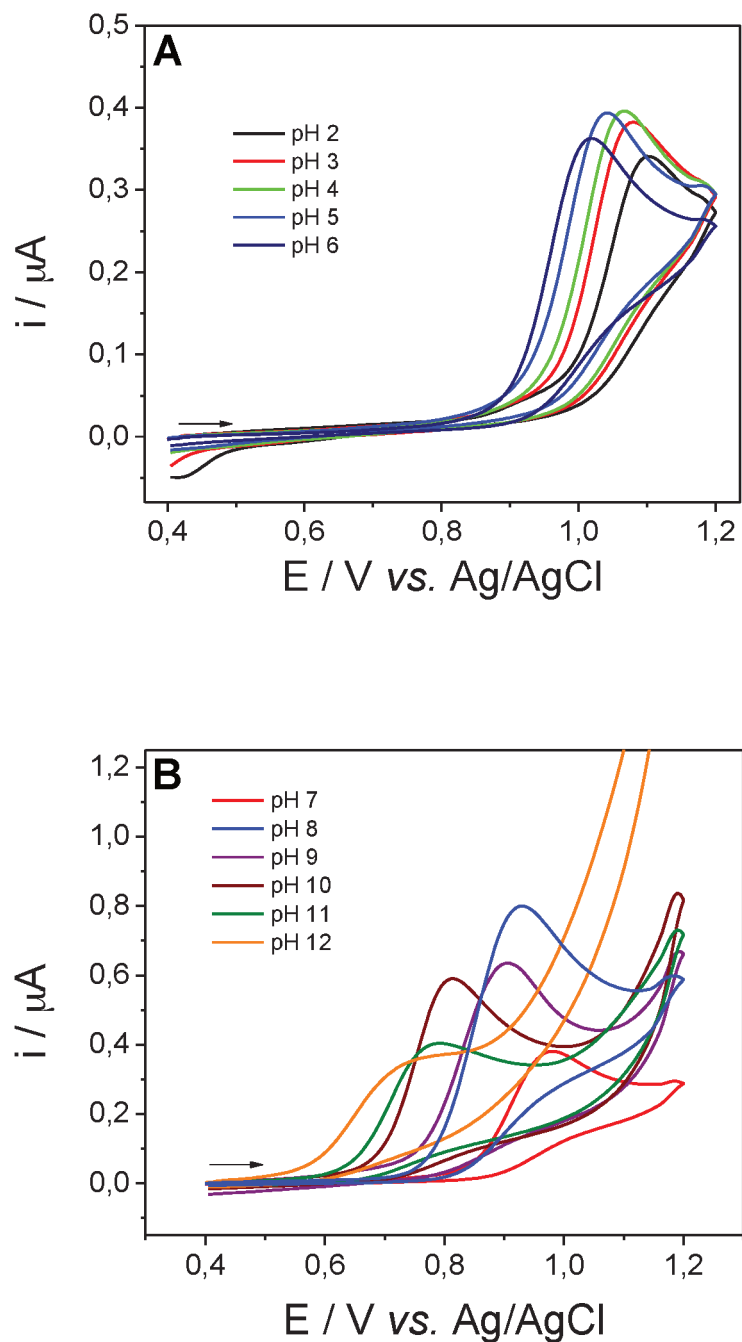




5.2.3 Otimização dos valores de pH

Nesta etapa foi investigada a influência da variação do pH do eletrólito suporte na faixa de 2,0 a 12,0 (utilizando-se solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹). A Figura 10 mostra o comportamento da resposta da SFL sobre a superfície do CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc nos diferentes valores de pH. Em valores mais ácidos, sinais de corrente de oxidação foram observados, porém no pH 8,0 houve uma melhor resposta e onde se obteve o maior sinal. Com o aumento da basicidade do meio, o sinal de corrente teve uma diminuição. Sabendo-se que a oxidação da SFL dá-se pela participação de prótons localizados no grupo amino ligado ao anel aromático (pKa = 10,6 à 20 °C)⁴³ é possível que a desprotonação ocorra de maneira facilitada em valores de menor potencial quando em pH básico. Entretanto, em valores de pH ácidos a desprotonação é dificultada, justificando os potenciais mais altos. Este comportamento também foi observado por Arvand *et al.*⁴⁴ na determinação de sulfametoxazol utilizando-se eletrodo de pasta de nanotubos de carbono. Frente a isto, nos estudos posteriores, optou-se por trabalhar em pH 8,0 no mesmo tampão.

Figura 10 - Voltamogramas cíclicos para SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre o CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc. (A) valores de pH 2,0 a 6,0; (B) valores de pH 7,0 a 12,0; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



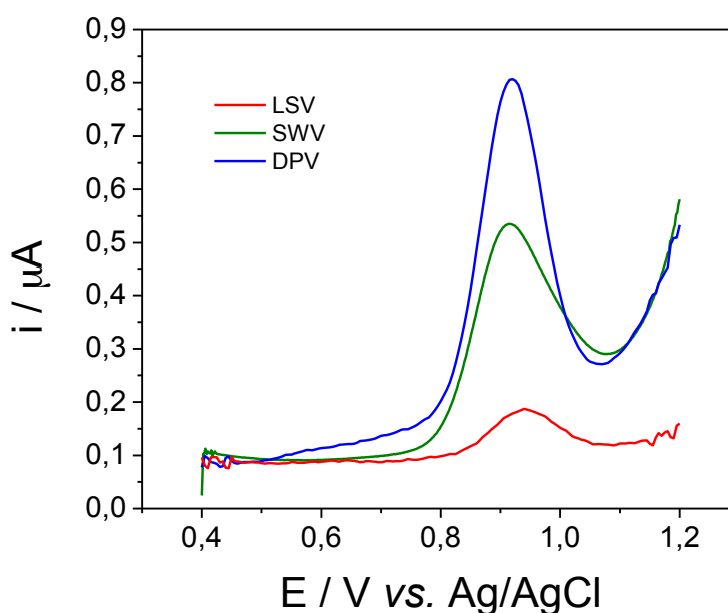
5.2.4 Seleção e otimização da técnica eletroanalítica

Diferentes técnicas eletroanalíticas foram investigadas para avaliar a sensibilidade destas frente à determinação da sulfanilamida. Dentre elas, utilizou-se as voltametrias linear (LSV), de pulso diferencial (DPV) e de onda quadrada (SWV).

5.2.4.1 Seleção da técnica eletroanalítica

Para todos os estudos, foi utilizada uma solução de SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) e as medidas realizadas utilizando-se o eletrodo CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc. Os parâmetros das técnicas foram ajustados para se obter a mesma velocidade de varredura em todas elas. A Figura 11 mostra os voltamogramas obtidos em cada técnica.

Figura 11 - Voltamogramas para a SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0) sobre o CPE/Si3Pic⁺Cl⁻/NiTsPc; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

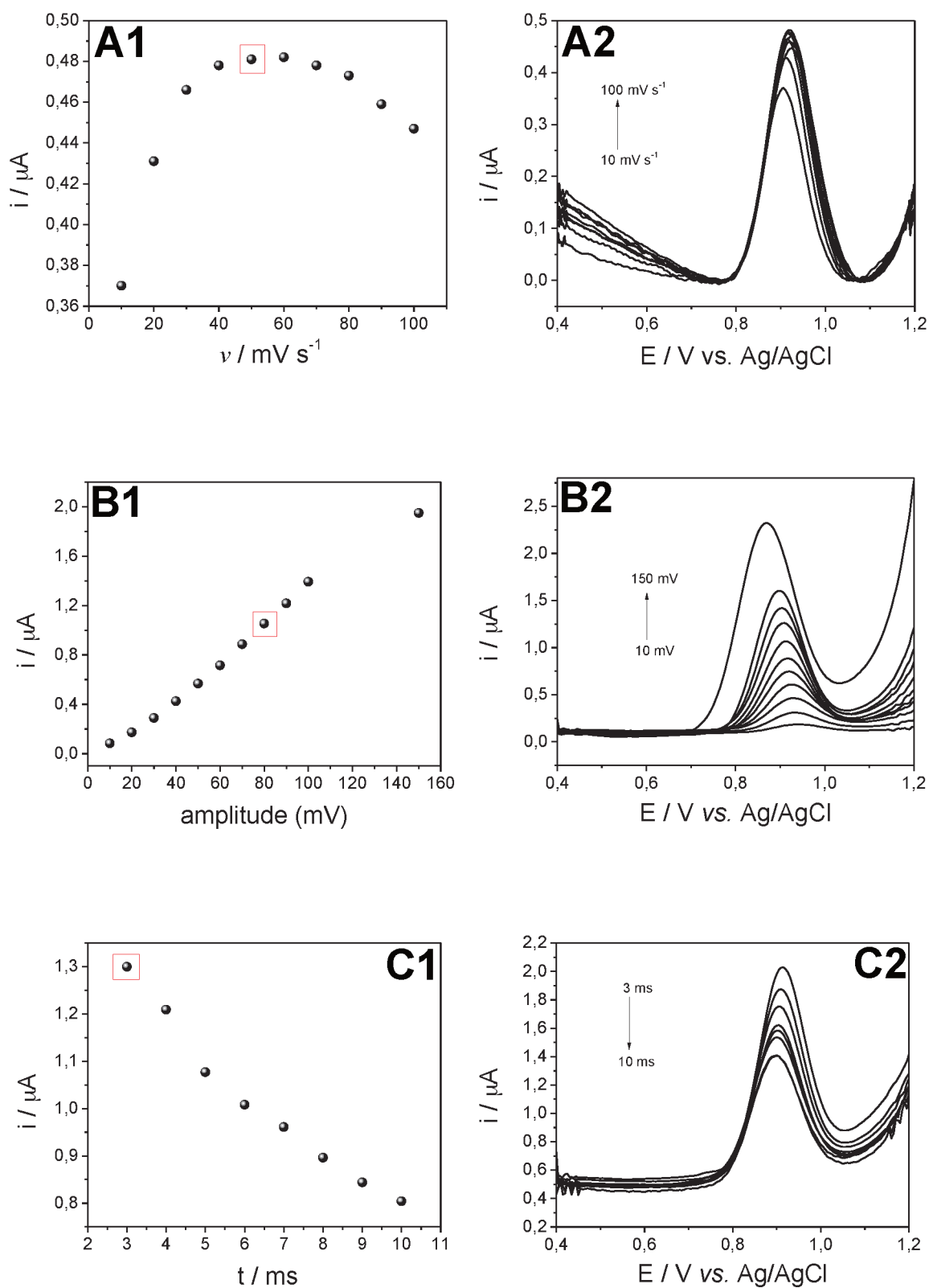


Observa-se que o voltamograma da técnica de DPV apresentou maior sinal de corrente, indicando a maior sensibilidade em comparação aos voltamogramas das outras duas técnicas. O resultado apresentou-se coerente, já que por se tratar de uma reação irreversível, a DPV direciona a variação da rampa de potencial para somente um sentido do processo, neste caso para a oxidação. A técnica de LSV apresentou menor sinal, já que o parâmetro experimental utilizado é somente velocidade de varredura, não sendo uma técnica de pulso. Já a SWV, é uma técnica utilizada preferencialmente para reações com uma cinética mais rápida, o que neste caso não ocorre segundo testes preliminares que mostraram uma cinética lenta para a oxidação da SFL. Portanto, a otimização da metodologia foi direcionada para a utilização da técnica de DPV, pois esta apresentou maior sensibilidade do que as demais.

5.2.4.2 Otimização dos parâmetros da DPV

Nesta etapa do trabalho, parâmetros da técnica de DPV foram investigados para garantir uma melhor resposta de valor de corrente obtida, implicando diretamente na sensibilidade da técnica. Desta forma, os parâmetros instrumentais investigados foram a velocidade de varredura, amplitude e tempo de pulso, com o objetivo de obter o melhor compromisso entre a intensidade de corrente resultante e a resolução dos picos. A otimização dos parâmetros de DPV foi realizada com análise univariada em uma solução de SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0). Os intervalos foram: velocidade de varredura = 10 a 100 mV s^{-1} ; amplitude = 10 a 150 mV; tempo de pulso = 3 a 10 ms. A Figura 12A1 relaciona a variação do sinal da corrente com o gradativo aumento da velocidade de varredura até 50 mV s^{-1} (valor selecionado), onde ocorre um decaimento do sinal a partir deste ponto, indicando que a reação processa-se com maior sensibilidade em velocidades mais baixas. A Figura 12B1 mostrou um aumento do sinal de corrente conforme maiores valores de amplitude. Sendo assim, utilizou-se os voltamogramas obtidos (Figura 12B2) para verificar o sinal voltamétrico com melhor resolução, sendo o correspondente ao valor de 80 mV o selecionado. Para o estudo do tempo de pulso (Figura 12C1), o maior valor obtido foi em 3 ms (valor selecionado), mostrando um decaimento com o aumento do tempo de pulso. As Figuras 12A2, 12B2 e 12C2 ilustram os voltamogramas obtidos durante a otimização de todos os parâmetros supracitados.

Figura 12 - Gráficos e voltamogramas obtidos pela dependência da corrente resultante com a variação da(o) (A1/A2) velocidade de varredura; (B1/B2) amplitude; (C1/C2) tempo de pulso para a SFL $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0).



Ao término, foram selecionados os valores que forneceram melhor perfil voltamétrico associado à maior intensidade de corrente. Os parâmetros e valores otimizados da técnica de DPV para a aplicação da metodologia estão descritos na Tabela 1.

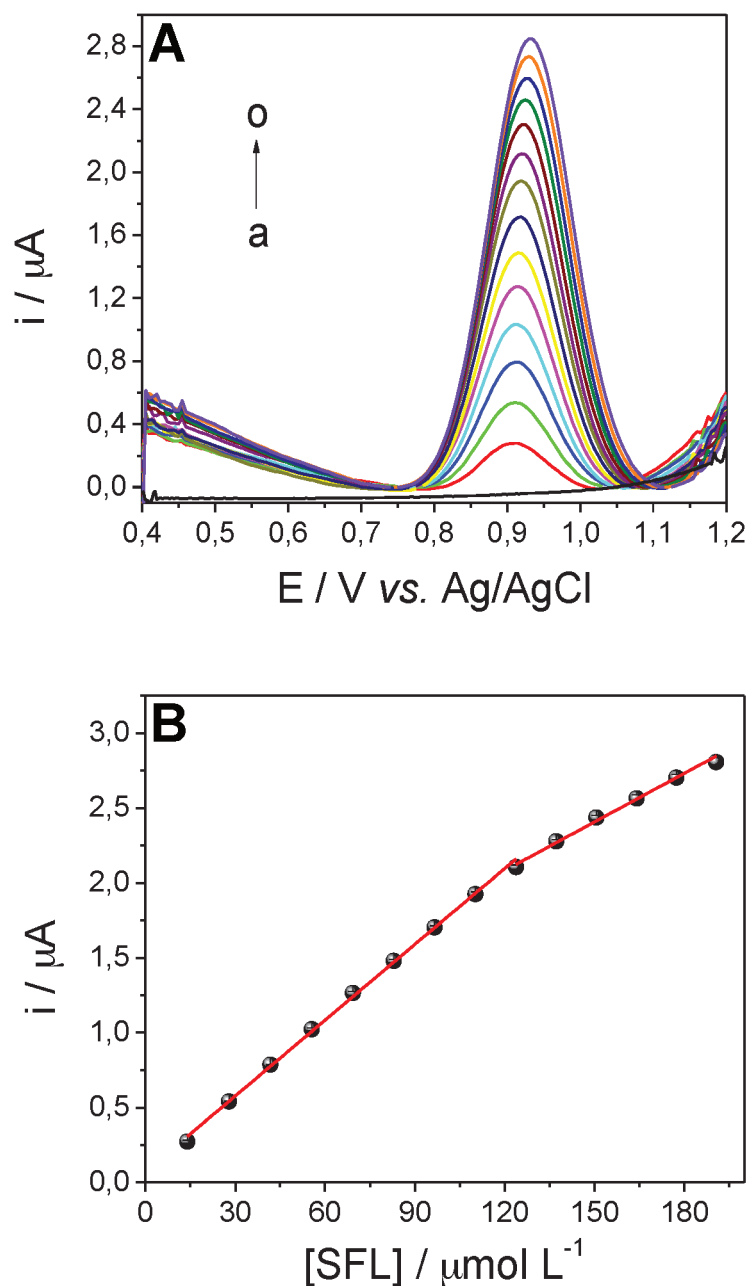
Tabela 1 - Otimização dos parâmetros da técnica de DPV para a determinação da sulfanilamida.

Parâmetro	Intervalo de estudo	Valor selecionado
pH	B-R (2,0 a 12,0)	8,0
Velocidade de varredura	10 a 100 mV s ⁻¹	50 mV s ⁻¹
Amplitude	10 a 150 mV	80 mV
Tempo de pulso	3 a 10 ms	3 ms

5.2.5 Curva de calibração

Uma curva de calibração foi obtida empregando as condições experimentais otimizadas (Tabela 1). O método constituiu-se de adições de alíquotas de solução padrão de SFL $7,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹ à solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0). A Figura 13A mostra os voltamogramas de pulso diferencial para sucessivas adições de SFL. Observa-se um pico definido em +0,93 V com aumento proporcional do sinal de corrente devido ao aumento da concentração de sulfanilamida. A curva de calibração, mostrada na Figura 13B, apresentou duas faixas de linearidade, sendo a primeira entre 14,0 µmol L⁻¹ a 126,0 µmol L⁻¹ (R = 0,99928) e a segunda entre 126,0 µmol L⁻¹ a 196,0 µmol L⁻¹ (R = 0,99731).

Figura 13 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial para (a) branco, SFL a (b) $14,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $28,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $42,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $56,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $70,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $84,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $98,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $112,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $126,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $140,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $154,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (m) $168,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (n) $182,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, (o) $196,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,0), velocidade de varredura 50 mV s^{-1} , amplitude 80 mV e tempo de pulso 3 ms . (B) Curva de calibração para a SFL.



As características analíticas extraídas da curva de calibração são mostradas na Tabela 2. As equações matemáticas que expressam as duas faixas lineares da curva de calibração são $i(\mu\text{A}) = 0,07 + 16.879,86[\text{SFL}]/\mu\text{mol L}^{-1}$ (desvio padrão do coeficiente linear 0,02458) e $i(\mu\text{A}) = 0,7847 + 10.818,53[\text{SFL}]/\mu\text{mol L}^{-1}$ (desvio padrão do coeficiente linear 0,1246) para a segunda. Percebe-se que a primeira

faixa apresenta maior sensibilidade devido à sua maior inclinação. Já a segunda faixa é menos inclinada, o que implica diretamente numa menor sensibilidade quando comparada à primeira. Os valores de limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados utilizando-se as seguintes equações³³:

$$\text{LOD} = 3,3 \frac{DP}{a}$$

$$\text{LOQ} = 10 \frac{DP}{a}$$

Trata-se *DP* como o desvio padrão do coeficiente linear e *a* o coeficiente angular da reta. Sendo assim, os valores de LOD e LOQ para a primeira faixa linear foram 4,80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 14,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Para a segunda faixa linear, foi observado o comprometimento dos parâmetros de mérito da análise, o que impossibilitou o seu uso para fins analíticos. Por isto, optou-se por trabalhar somente com a primeira faixa.

Tabela 2 - Características analíticas da SFL para a curva de calibração.

Parâmetro	Valor
Pico de potencial (V)	+0,93
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	14,0 a 126,0
Coeficiente de correlação (R)	0,99928
Coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	16.879,86
Desvio padrão do coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	221,24
Coeficiente linear (μA)	0,07
Desvio padrão do coeficiente linear (μA)	0,02458
LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	4,8
LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	14,5

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

A pesquisa desenvolvida abordou o estudo do efeito da modificação de eletrodos de pasta de carbono com $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ e $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$ para a determinação da sulfanilamida, por meio de uma metodologia simples, de baixo custo e com pouca geração de resíduos. O eletrodo $\text{CPE}/\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$ apresentou a melhor resposta dentre os eletrodos estudados com um pico de oxidação em +0,93 V em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 8,0) e maior área eletroativa, o que sugere que as interações eletrostáticas entre $\text{Si3Pic}^+\text{Cl}^-$ e NiTsPc facilitam a transferência eletrônica. Os voltamogramas mostraram um processo irreversível e controlado por difusão. A técnica eletroanalítica de DPV foi a escolhida e posteriormente otimizada, já que exibiu o melhor comprometimento entre intensidade de corrente e qualidade do sinal analítico. A curva de calibração apresentou duas faixas lineares em concentrações de 14,0 µmol L⁻¹ a 126,0 µmol L⁻¹ ($R = 0,99928$) para a primeira e de 126,0 µmol L⁻¹ a 196,0 µmol L⁻¹ ($R = 0,99731$) para a segunda. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram 4,8 µmol L⁻¹ e 14,5 µmol L⁻¹, respectivamente.

Como perspectivas futuras, deve-se ainda realizar estudos complementares da metodologia, porém o sensor desenvolvido neste trabalho mostrou-se como potencial detector de sulfanilamida e poderá ser empregado em matrizes medicamentosas ou até mesmo para amostras de água contaminada.

7. REFERÊNCIAS

- ¹Pereira, A.C.; Santos, A.S.; Kubota, L.T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quím. Nova**, São Paulo, vol. 25, n. 6a, p. 1012-1021, 2002.

- ²Caldas, E.M.; Menezes, E.W.; Pizzolato, T.M.; Dias, S.L.P.; Costa, T.M.H.; Arenas, L.T.; Benvenuti, E.V. Ionic silsesquioxane film immobilized on silica applied in the development of carbon paste electrode for determination of methyl parathion. **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, vol. 72, n. 2, p. 282-289, 2014.

- ³Bueno, A.M.; Contento, A.M.; Ríos, A. Validation of a screening method for the rapid control of sulfonamide residues based on electrochemical detection using multiwalled carbon nanotubes-glassy carbon electrodes. **Anal. Methods**, vol. 5, n. 23, p. 6821-6829, 2013.

- ⁴Souza, M.F.B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Quím. Nova**, São Paulo, vol. 20, n. 2, p. 191-195, 1997.

- ⁵Vasjara, M.; Parroj, N. **Phenolic biosensor based on carbon paste electrode modified with crude tissue**. Departamento de Química, Faculdade de Ciências Naturais, Universidade de Tirana, Tirana - Albânia.

- ⁶José, N.M.; Prado, L.A.S.A. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. **Quím. Nova**, São Paulo, vol. 28, n. 2, p. 281-288, 2005.

- ⁷Magosso, H.A.; Fattori, N.; Kholin, Y.V.; Gushikem, Y. Adsorption of Metal Ions on Novel 3-*n*-Propyl(Methylpyridinium) Silsesquioxane Chloride Polymers Surface - Study of Heterogeneous Equilibrium at the Solid-Solution Interface. **J. Braz. Chem. Soc.**, vol. 20, n. 4, p. 744-752, 2009.

- ⁸Neagu, V.; Bunia, I.; Plesca, I.; Popa, M. Synthesis of new chelating ion exchange resin with hydroxamic and amidoxime groups and study of its metal binding property. **J. Appl. Polym. Sci.**, vol. 88, n. 13, p. 2956-2962, 2003.

- ⁹Henry, W.D.; Zhao, D.; SenGupta, A.K.; Lange, C. Preparation and characterization of a new class of polymeric ligand exchangers for selective removal of trace contaminants from water. **React. Funct. Polym.**, vol. 60, p. 109-120, 2004.

¹⁰Baouab, M.H.V.; Zghida, H.; Gauthier, R.; Gauthier, H. Cationized nylon as adsorbent for anionic residual dyes. **J. Appl. Polym. Sci.**, vol. 91, n. 4, p. 2513-2522, 2003.

¹¹Delval, F.; Crini, G.; Bertini, S.; Filiatre, C.; Torri, G. Preparation, characterization and sorption properties of crosslinked starch-based exchangers. **Carbohydr. Polym.**, vol. 60, n. 1, p. 67-75, 2005.

¹²Khan, A.A.; Alam, M.M. New and novel organic-inorganic type crystalline 'polypyrrole/polyantimonic acid' composite system: preparation, characterization and analytical applications as a cation-exchange material and Hg(II) ion-selective membrane electrode. **Anal. Chim. Acta**, vol. 504, n. 2, p. 253-264, 2004.

¹³Peper, S.; Gonczy, C.; Runde, W. Cs⁺ - selective membrane electrodes based on ethylene glycol-functionalized polymeric microspheres. **Talanta**, vol. 67, n. 4, p. 713-717, 2005.

¹⁴Magosso, H.A. **Preparação e propriedades de novos polímeros ânion-trocadores cloreto de n-propil (metilpiridínio) silsesquioxano**. 2008. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, SP.

¹⁵Menezes, E.W.; Nunes, M.R.; Arenas, L.T.; Dias, S.L.P.; Garcia, I.T.S.; Gushikem, Y.; Costa, T.M.H.; Benvenutti, E.V. Gold nanoparticle/charged silsesquioxane films immobilized onto Al/SiO₂ surface applied on the electrooxidation of nitrite. **J. Solid State Electrochem.**, vol. 16, n. 12, p. 3703-3713, 2012.

¹⁶Schneid, A.C.; Roesch, E.W.; Sperb, F.; Matte, U.; Silveira, N.P.; Costa, T.M.H.; Benvenutti, E.V.; Menezes, E.W. Silver nanoparticle-ionic silsesquioxane: a new system proposed as an antibacterial agent. **J. Mater. Chem. B**, vol. 2, n. 8, p. 1079-1086, 2014.

¹⁷Canevari, T.C. **Ftalocianina de cobalto preparada *in situ* sobre o óxido misto SiO₂/SnO₂ obtido pelo processo sol-gel/Aplicação na oxidação eletrocatalítica do ácido oxálico e do nitrito**. 2008. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, SP.

¹⁸Karuppiah, C.; Devasenathipathy, R.; Chen, S.-M.; Arulraj, D.; Palanisamy, S.; Mani, V.; Vasantha, V.S. Fabrication of Nickel Tetrasulfonated Phthalocyanine Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes on Activated Glassy Carbon Electrode for the Detection of Dopamine. **Electroanalysis**, vol. 27, n. 2, p. 485-493, 2015.

¹⁹Pontié, M.; Thouand, G.; De Nardi, F.; Tapsoba, I.; Lherbette, D. Antipassivating Electrochemical Process of Glassy Carbon Electrode (GCE) Dedicated to the Oxidation of Nitrophenol Compounds. **Electroanalysis**, vol. 23, n. 7, p. 1579-1584, 2011.

²⁰Ftalocianina tetrassulfonada de níquel (II) tetrassódica. National Center for Biotechnology Information. **PubChem Substance Database**; SID=24856614. Disponível em:<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/24856614>>. Acesso em Nov., 2016.

²¹Kalache, A.; Veras, R.P.; Ramos, L.R. O envelhecimento da população mundial: um desafio novo. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, vol. 21, n. 3, p. 200-210, 1987.

²²Sulfanilamide: molecule of the Week/Archive S. **Am. Chem. Soc.** Disponível em:<<https://www.acs.org/content/acs/en/molecule-of-the-week/archive/s/molecule-of-the-week-sulfanilamide.html>>. Acesso em Nov., 2016.

²³Gao, J.; Lv, D.; Yang, W.; Wei, X.; Qu, J.; Chen, H.; Dai, H.; Ren, J. Determination of sulfanilamide based on the Mn(II)-catalyzed oscillating chemical reaction. **Cent. Eur. J. Chem.**, vol. 5, n. 2, p. 581-589, 2007.

²⁴Sulfanilamide/Data Source - ChemSpider. **R. Soc. Chem.** Disponível em:<<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5142.html>>. Acesso em Nov., 2016.

²⁵Tadi, K.K.; Motghare, R.V.; Ganesh, V. Electrochemical Detection of Sulfanilamide Using Pencil Graphite Electrode Based on Molecular Imprinting Technology. **Electroanalysis**, vol. 26, n. 11, p. 2328-2336, 2014.

²⁶Yargeau, V.; Huot, J.C.; Rodayan, A.; Rouleau, L.; Roy, R.; Leask, R.L. Impact of degradation products of sulfamethoxazole on mammalian cultured cells. **Environ. Toxicol.**, vol. 23, n. 4, p. 492-498, 2008.

²⁷Baran, W.; Adamek, E.; Ziemiańska, J.; Sobczak, A. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. **J. Hazard. Mater.**, vol. 196, p. 1-15, 2011.

²⁸US National Institutes of Health; **DailyMed**, Current Medication Information for Sulfisoxazole, 2008. Disponível em:<<http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/>>. Acesso em Set., 2016.

²⁹**TOXNET** – Databases on toxicology, hazardous chemicals, environmental health, and toxic releases. Disponível em:<<http://toxnet.nlm.nih.gov/>>. Acesso em Set., 2016.

³⁰**ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Antimicrobianos: bases teóricas e uso clínico/Antimicrobianos - principais grupos disponíveis para uso clínico. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/sulfonamidas6.htm>. Acesso em Set., 2016.

³¹Malintan, N.T.; Mohd, A.M. Determination of sulfonamides in selected Malaysian swine wastewater by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, vol. 1127, n. 1-2, p. 154-160, 2006

³²Santos, B.; Lista, A.; Simonet, B.M.; Ríos, A.; Valcárcel, M. Screening and analytical confirmation of sulfonamide residues in milk by capillary electrophoresis-mass spectrometry. **Electrophoresis**, vol. 26, n. 7-8, p. 1567-1575, 2005.

³³Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, F.J.; Crouch, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Cengage; Edição 1, p. 1124 Thomson, São Paulo-SP, 2006. 2.

³⁴Ribeiro, J.D. **Estudo analítico e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial da espécie *Pimenta dioica* Lindl.** João Pessoa, PB, 2009. 93f. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, PB.

³⁵Agostinho, S.M.L.; Villamil, R.F.V.; Neto, A.A.; Aranha, H. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Quím. Nova**, São Paulo, vol. 27, n. 5, p. 813-817, 2004.

³⁶Bard, A.J.; Faulkner, L.R. **Electrochemical methods, fundamentals and applications**. 2nd Edition, Ed. John Wiley & Sons Inc., p. 864, New York, 1980.

³⁷Souza, C.D.; Braga, O.C.; Vieira, I.C.; Spinelli, A. Electroanalytical determination of sulfadiazine and sulfamethoxazole in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. **Sens. Actuators, B**, vol. 135, n. 1, p. 66-73, 2008.

- ³⁸Magosso, H.A; Luz, R.C.S.; Gushikem, Y. Preparation and properties of the hybrid material *n*-propyl(3-methylpyridinium) silsesquioxane chloride. Application in electrochemical determination of nitrite. **Electroanalysis**, vol. 22, n. 2, p. 216-222, 2010.
- ³⁹Zampa, M.F.; Brito, A.C.F.; Kitagawa, I.L.; Constantino, C.J.L.; Oliveira Jr, O.N.; Cunha, H.N.; Zucolotto, V.; Santos, J.R.; Eiras, C. Natural gum-assisted phthalocyanine immobilization in electroactive nanocomposites: physicochemical characterization and sensing applications. **Biomacromolecules**, vol. 8, n. 11, p. 3408-3413, 2007.
- ⁴⁰Zucolotto, V.; Ferreira, M.; Cordeiro, M.R.; Constantino, C.J.L.; Moreira, W.C.; Oliveira, Jr, O.N. Nanoscale processing of polyaniline and phthalocyanines for sensing applications. **Sens. Actuators, B**, vol. 113, n. 2, p. 809-815, 2006.
- ⁴¹Perez, E.F.; Kubota, L.T.; Tanaka, A.A.; Neto, G.O. Anodic oxidation of cysteine catalyzed by nickel tetrasulphonated phthalocyanine immobilized on silica gel modified with titanium (IV) oxide. **Electrochim. Acta**, vol. 43, n. 12-13, p. 1665-1673, 1998.
- ⁴²Santos, C.S.; Ferreira, R.T.; Calixto, C.M.F.; Garcia, J.R.; Fujiwara, S.T.; Wohnrath, K.; Pessoa, C.A. The influence of organization of LbL films containing a silsesquioxane polymer on the electrochemical response of dopamine. **J. Appl. Electrochem.**, vol. 44, n. 9, p. 1047-1058, 2014.
- ⁴³Sulfanilamide. National Center for Biotechnology Information. **PubChem Substance Database**; CID=5333. Disponível em:<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5333>>. Acesso em Nov., 2016.
- ⁴⁴Arvand, M.; Ansari, R.; Heydari, L. Electrocatalytic oxidation and diferential pulse voltammetric determination of sulfamethoxazole using carbon nanotube paste electrode. **Mater. Sci. Eng. C**, vol. 31, n. 8, p. 1819-1825, 2011.